

Prognostic factors in primary breast cancer

Citation for published version (APA):

Jansen, R. L. H. (1998). *Prognostic factors in primary breast cancer*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Universiteit Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.19981001rj>

Document status and date:

Published: 01/01/1998

DOI:

[10.26481/dis.19981001rj](https://doi.org/10.26481/dis.19981001rj)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Chapter VII

**Summary and
general discussion**

Summary and general discussion

Breast cancer is the most frequent malignancy in women in the Netherlands, affecting more than 10.000 new patients each year. Despite a rising incidence the mortality over the last few years has remained stable. This improvement in prognosis is most likely explained by two factors: firstly tumours are diagnosed at an earlier and, therefore, more curable stage, and secondly systemic adjuvant treatment with hormonal therapy, chemotherapy or both has resulted in better disease-free and overall survival. Unfortunately, despite these advances, not every patient benefits from adjuvant therapy. Historically, only patients with axillary lymph-node metastases have been treated with adjuvant therapy, although there is now an increasing tendency to treat unfavourable subsets of patients without axillary lymph node metastases. There remains, however, uncertainty regarding which are the most important prognostic factors. There is an need to define factors which can predict outcome for individual patients such that those who have a high chance of cure with loco-regional therapy alone are spared the side effects of systemic therapy whilst those patients with a high risk of recurrence can receive tailored systemic therapy. Over the last two decades many prognostic factors have been investigated in primary breast cancer. We have investigated the value of several more recently developed prognostic factors by immunohistochemistry in a group of 349 patients with primary breast cancer from one hospital, uniformly treated and with a median follow-up of more than 10 years.

In Chapter I a review is given of the literature on prognostic factors. Hundreds of studies have investigated dozens of prognostic factors, mostly in retrospective studies often with relatively few patients and generally short follow-up. It can be concluded that only more traditional prognostic factors such as axillary lymph-node status, tumour size, proliferative activity and probably tumour grade can be considered as established. With regard to the more recently developed prognostic factors this can only be stated for p53 and probably also microvessel density.

In Chapter II the prognostic value of the immunohistochemical pS2 determination is described. Although in pS2-negative tumours there was a trend for less locoregional relapse, the prognostic value of immunohistochemical pS2 determination could not be demonstrated neither for disease-free survival nor for overall survival. This is in line with the literature where no other study using this immunohistochemical method has found prognostic significance for the pS2 status of the tumour, at least in multivariate analysis. On the contrary several studies using the more laborious cytosolic assay have demonstrated better disease-free and/or overall survival in multivariate analysis. Probably with both methods different epitopes of the protein are measured. Furthermore, in our study pS2 was

the most important factor for post-relapse survival in a multivariate analysis including axillary lymph node status, ER, PR, ploidy and S-phase fraction. This suggests that pS2 is a predictive factor for response to systemic therapy, although we were not able to formally address this question in our study. Because there are indications that pS2 expression reflects the functional status of ER and is also involved in growth regulation, the pS2 status could have predictive value both for hormonal therapy and chemotherapy. In two other studies the predictive value of the pS2 status has been demonstrated for chemotherapy as well as for hormonal therapy. Further prospective studies are needed to investigate if the immunohistochemical pS2 status can be used to predict the response to systemic therapy.

In Chapter III a study on the possible use of the adhesion molecule CD44v6 as a prognostic factor is reported. Although the first study on this subject showed CD44v6 to be an independent prognostic factor, we could not confirm this in a much larger study with longer follow-up. Several other studies have also been unable to demonstrate the value of CD44v6 as a prognostic factor at least in multivariate analysis. It can, therefore, be concluded that the CD44v6 expression has no prognostic value in primary breast cancer. Such prognostic value seems also unlikely on biological grounds because CD44v6 is often expressed in normal tissues including normal breast tissue. More studies are, however, needed to further elucidate the role of CD44 isoforms in the progression of cancer.

In Chapter IV it is demonstrated that the MIB-1 labelling index is an independent prognostic factor for disease-free survival. This is true when a cut-off at the median value of 7% is used and also when MIB-1 is analysed as a continuous variable. Several other studies have shown that MIB-1 or Ki-67 are important prognostic factors in multivariate analysis for patients with primary breast cancer. There are other methods of measuring the proliferative activity of a tumour, such as the assessment of the S-phase fraction, thymidine-labelling index and mitotic index. These methods have been investigated in several studies and all of them have been found to have prognostic value sometimes in multivariate analysis. In our patients S-phase fraction only had an effect with respect to prognosis in univariate analysis. Only a few studies have directly compared different methods of measuring the proliferative activity of a primary breast tumour. We observed a very weak association between MIB-1 labelling index and the S-phase fraction. Several other authors have reported a higher association between S-phase fraction and MIB-1 or Ki-67. Furthermore, in our patients in multivariate analysis MIB-1 labelling index but not S-phase fraction was a prognostic factor. The contrary has, however, also been reported. Most of these differences are probably explained by different methodologies. For routine clinical practice immunohistochemical methods

seem most suitable. Because several studies have demonstrated the independent prognostic significance of Ki-67 and MIB-1, prospective studies with these antibodies are needed in which there should be consensus on the methodology.

In Chapter V the proto-oncogene *bcl-2* and the tumour suppressor gene *p53* were investigated with respect to their prognostic role in primary breast cancer. At the end of the whole follow-up period *bcl-2* expression had no influence on disease-free or overall survival. This seems at variance with most of the literature since in several studies it has been found that *bcl-2* expression, at least in univariate analysis, is associated with better disease-free and/or overall survival. These differences can be explained by the length of the follow-up period, which was shorter in most studies. This suggests that *bcl-2* expression is a time-dependent prognostic factor.

In our patients *p53*-positivity was associated with worse overall survival for the whole group of patients and the node-negative subgroup. In multivariate analysis *p53* expression was also associated with decreased overall survival. With respect to disease-free survival there was a trend for better disease-free survival in *p53* negative patients, but this did not reach statistical significance. These results correspond with those reported in the literature, but as has been stated in a review the prognostic effect of *p53* is probably small. The fact that in our study *p53* expression was correlated with poor post-relapse survival in multivariate analysis suggests that *p53* expression could be predictive of the response to systemic therapy in patients with breast cancer. This is in line with the few data in the literature on the predictive value of *p53* expression.

Of interest are the findings in *bcl-2/p53* subgroups. In the *bcl-2* positive subgroup there was a large difference between *p53* negative and *p53* positive patients with respect to disease-free survival (77 vs 53% 5-year survival) and overall survival (86 vs 59% 5-year survival). In the *bcl-2*-negative subgroup, however, *p53* status did not essentially influence disease-free or overall survival. Generally comparable tendencies were found in node-negative and node-positive patients. For post-relapse survival *bcl-2* positive/*p53* negative patients clearly had a better prognosis than the other 3 subgroups. More studies on these subgroups are needed and an explanation for this phenomenon, if it is confirmed, is not easy to give. Because *bcl-2* expression in breast cancer is probably related to slower growth, it could be speculated that in *bcl-2* positive breast tumours *p53* status is important for the prognosis of the patient but not necessarily related to apoptosis. If on the other hand loss of *bcl-2* expression is correlated with faster growth of breast cancer, it is conceivable that *p53* no longer plays a role.

In Chapter VI the results of counting microvessel density with anti-CD34 and anti-fVIII-RAg in the same patients are described. We were not able to confirm the results as mentioned in most of the literature, stating that microvessel density is an independent prognostic factor in primary breast cancer. Although in our patients a higher microvessel density as determined by anti-CD34 was associated with an increasing risk of relapse when analysed as a continuous variable, no single cut-off could be found that lead to a significant difference in disease-free survival. Microvessel density as determined by anti-fVIII-RAg showed no influence on both overall and disease-free survival. Several other investigators were also unable to demonstrate an (independent) prognostic value for microvessel density. This has resulted in active discussions in the literature. From these discussions it can be concluded that determining the microvessel density is technically difficult with several subjective aspects. The present method of microvessel counting, therefore, seems unsuitable for use in routine practice for patients with cancer.

Furthermore, in our patients age above 69 years was correlated with a lower microvessel density. This confirms the findings in two other studies. Assuming that microvessel density despite methodological problems is a prognostic factor, this suggests that older age is associated with a better prognosis in primary breast cancer.

In conclusion, with respect to all investigated prognostic variables, MIB-1 labelling index proved to be an independent prognostic factor for disease-free survival and p53 expression for overall survival. This supports much of what is found in the literature, however with a substantially longer follow-up than what has mostly been reported in other studies. In line with the literature none of the more recently developed factors studied in this thesis can be used to make treatment decisions in individual patients. Moreover about 20 years of research on these newer prognostic factors in primary breast cancer has not lead to much progress in this subject. Improvement on this subject will only be possible when more uniform methods are used in prospective studies. It seems, however, unlikely at this moment that any single prognostic factor can be used in the future to decide which individual patient can benefit from (adjuvant) systemic therapy.

It could be more fruitful to use these newer factors to tailor adjuvant therapy for an individual patient. The fact that in our patients both pS2 and p53 had independent prognostic value for post-relapse survival in multivariate analyses, suggests that these factors can be used to predict response to systemic therapy. There is not much literature on this subject, but several studies now lend support to the idea that these newer factors better can be used as predictive than as prognostic factors. More studies on this subject, preferably prospective in character and with uniform methodologies are needed.

Further it can be speculated that molecular-biological methods investigating specific

genetic alterations give better prognostic information. Although at present most techniques used to screen or detect genetic alterations are laborious and costly, it might be anticipated, that for example with the development of DNA chip technology, genetic screening will become more generally available and can be used for prognostication.

Chapter VIII

**Samenvatting en algemene
discussie**

Samenvatting en algemene discussie

Borstkanker is de meest voorkomende maligniteit bij vrouwen in Nederland. De diagnose wordt per jaar bij meer dan 10.000 nieuwe patiënten gesteld. Ondanks een stijgende incidentie is de mortaliteit de laatste jaren ongeveer stabiel gebleven. Deze verbetering in de prognose is het meest waarschijnlijk te verklaren door twee factoren: ten eerste worden tumoren gediagnostiseerd in een gunstiger stadium, en ten tweede heeft adjuvante systemische behandeling met hormonen, chemotherapie, of een combinatie van beide, geresulteerd in betere ziektevrije en totale overleving. Echter, zeker niet alle patiënten met een primair mammacarcinoom hebben profijt van adjuvante systemische therapie. Historisch gezien werden alleen patiënten met okselkliermetastasen behandeld met adjuvante chemotherapie. Recent is er een toenemende tendens om patiënten zonder okselkliermetastasen met ongunstige prognostische factoren ook te behandelen. Er blijft onzekerheid bestaan welke de meest belangrijke prognostische factoren zijn. Het is noodzakelijk factoren te definiëren die de prognose van individuele patiënten bepalen. Op die manier kunnen patiënten met een hoge kans op curatie na loco-regionale therapie alléén de bijwerkingen van systemische therapie bespaard worden, terwijl patiënten met een hoge kans op recidief of metastasen een individueel aangepaste therapie kunnen krijgen. Vooral de laatste 20 jaar zijn vele prognostische factoren onderzocht bij het primaire mammacarcinoom. Wij hebben de waarde onderzocht van diverse, meer recent ontwikkelde prognostische factoren, met behulp van immuunhistochemische methoden in een groep van 349 patiënten met primair mammacarcinoom uit één ziekenhuis, die zoveel mogelijk uniform behandeld zijn en met een mediane follow-up van meer dan 10 jaar.

In Hoofdstuk I wordt een overzicht gegeven van de literatuur over prognostische factoren. In honderden studies zijn tientallen prognostische factoren onderzocht, voornamelijk retrospectief met relatief weinig patiënten en in het algemeen een korte follow-up.

Uit de literatuur hebben wij geconcludeerd dat slechts meer traditionele prognostische factoren, zoals de okselklierstatus, de grootte van de primaire tumor, proliferatieve activiteit, en waarschijnlijk de tumorgraad, beschouwd kunnen worden als gevestigde prognostische factoren.

M.b.t. de meer recent ontwikkelde prognostische factoren kan dit slechts gesteld worden voor p53 en waarschijnlijk ook voor microvaatdichtheid.

In Hoofdstuk II wordt de prognostische waarde van de immuunhistochemische pS2 bepaling beschreven. Hoewel in pS2-negatieve tumoren er een trend was voor minder locoregionale relapse, kon de prognostische waarde van immuunhistochemische pS2 bepaling niet worden aangetoond, noch voor ziektevrije overleving,

noch voor totale overleving. Dit komt overeen met wat in de literatuur wordt gesteld, waarbij geen enkele andere studie, die de immunohistochemische methode heeft gebruikt, een prognostische waarde heeft aangetoond voor de pS2 status van de tumor, althans in multivariate analyse. Daarentegen hebben diverse studies, die de meer arbeidsintensieve cytosol-assay hebben gebruikt, een betere ziektevrije en totale overleving aangetoond in multivariate analyse. Het meest waarschijnlijk worden met beide methoden verschillende epitopen van het eiwit gemeten.

Verder was in onze studie pS2 de meest belangrijke factor voor de overleving na relapse in een multivariate analyse met axillaire lymfklierstatus, oestrogeenreceptor, progesteronreceptor, ploïdie-status en S-fase fractie. Dit suggereert dat pS2 meer een predictieve factor is voor de response op systemische therapie, alhoewel wij niet in staat waren deze vraag in onze studie formeel te beantwoorden. Omdat er aanwijzingen zijn dat de pS2 expressie de functionele status van de oestrogeenreceptor weerspiegelt, maar ook dat pS2 betrokken is bij de groeiregulatie, zou de pS2-status predictieve waarde kunnen hebben, zowel met betrekking tot hormonale therapie als chemotherapie.

In twee andere studies werd de predictieve waarde van de pS2-status aangetoond voor chemotherapie en hormonale therapie. Verdere prospectieve studies zijn nodig om te onderzoeken of de immunohistochemische pS2-status kan worden gebruikt om de response op systemische therapie te voorspellen.

In Hoofdstuk III wordt een studie beschreven betreffende het mogelijk gebruik van het adhesiemolecuul CD44v6 als een prognostische factor.

Hoewel de eerste studie betreffende dit adhesiemolecuul aantoonde dat CD44v6 een onafhankelijk prognostische factor is, konden wij dit in een veel grotere studie, met langere follow-up, niet bevestigen. Diverse andere kleinere studies konden ook de waarde van CD44v6 als een prognostische factor niet aantonen, althans in multivariate analyse. Daarom kan worden geconcludeerd dat de CD44v6-expressie geen prognostische waarde heeft bij het primaire mammacarcinoom. Een dergelijke prognostische waarde lijkt op biologische gronden ook minder waarschijnlijk, omdat CD44v6 vaak tot expressie komt in normaal weefsel, inclusief normaal mammaweefsel. Meer onderzoek is echter nodig om de rol van CD44 isovormen bij de progressie van maligniteiten te verhelderen.

In Hoofdstuk IV wordt aangetoond dat de MIB-1 labeling index als een maat voor de proliferatie een onafhankelijke prognostische factor is met betrekking tot ziektevrije overleving. Dit is zowel waar bij een cut-off punt bij de mediane waarde van 7%, als wanneer MIB-1 wordt geanalyseerd als een continue variabele. Diverse andere studies hebben aangetoond dat MIB-1 of Ki67 belangrijke prognostische factoren zijn in multivariate analyse voor patiënten met een primair mammacarcinoom. Er zijn echter ook andere methoden om de proliferatieve

activiteit van de tumor te meten, zoals het meten van de S-fase fractie, de thymidine labeling index en de mitotische index. Deze methoden zijn ook in diverse studies onderzocht en van alle is prognostische waarde aangetoond, soms in multivariate analyse. Bij onze patiënten had S-fase fractie alleen waarde met betrekking tot prognose in univariate analyse.

Slechts weinig studies hebben verschillende methoden om de proliferatieve activiteit van de primaire mammatumor te meten direct vergeleken. Wij konden slechts een zeer zwakke associatie tussen MIB-1 labeling index en S-fase fractie aantonen. Diverse andere studies hebben een hogere associatie tussen S-fase fractie en MIB-1 of Ki67 gevonden.

Verder was bij onze patiënten met behulp van multivariate analyse wel de MIB-1 labelingsindex, doch niet de S-fase fractie, een prognostische factor. Het tegenovergestelde is echter ook beschreven. De meeste van deze verschillen kunnen waarschijnlijk worden verklaard door verschil in de methodologie. In de normale routinepraktijk lijken immuunhistochemische methoden het meest geschikt. Omdat diverse studies de onafhankelijke prognostische waarde van Ki67 en MIB-1 hebben aangetoond, zijn prospectieve studies met deze antilichamen noodzakelijk, waarbij er consensus dient te zijn betreffende de methodologie.

In Hoofdstuk V werden het proto-oncogen *bcl-2* en het tumorsuppressorgen *p53* onderzocht met betrekking tot de prognostische rol bij het primair mammacarcinoom. Na de gehele follow-up periode had *bcl-2* expressie geen invloed op de ziektevrije totale overleving. Dit lijkt afwijkend van het merendeel van de literatuur, omdat in diverse studies is gevonden dat de *bcl-2* expressie op z'n minst in univariate analyse is geassocieerd met een betere ziektevrije en/of totale overleving. Deze verschillen kunnen waarschijnlijk worden verklaard door de lengte van de follow-up periode, die in de meeste studies beduidend korter is. Dit suggereert dat de *bcl-2* expressie een tijdsafhankelijke prognostische factor is.

In onze patiënten was *p53*-positiviteit geassocieerd met een slechtere totale overleving voor de hele groep patiënten en de klier-negatieve subgroep. Ook in multivariate analyse was *p53*-expressie geassocieerd met een verminderde totale overleving. Wat betreft de ziektevrije overleving was er een trend voor een betere ziektevrije overleving bij *p53*-negatieve patiënten, doch dit verschil was niet statistisch significant. Deze resultaten komen overeen met wat in de literatuur wordt gemeld, maar zoals in een review werd gesteld is het prognostisch effect van *p53* waarschijnlijk klein.

Het feit dat in onze studie *p53* expressie was gecorreleerd met een slechte overleving na relapse, ook in multivariate analyse, suggereert dat *p53*-expressie de response op systemische therapie in patiënten met mammacarcinoom kan voorspellen. De overigens beperkte gegevens in de literatuur betreffende de predictieve waarde van *p53*-expressie ondersteunen dit.

Belangrijk zijn verder de bevindingen in de bcl-2/p53 subgroepen. In de bcl-2-positieve subgroep was er een groot verschil tussen p53-negatieve en p53-positieve patiënten wat betreft de ziektevrije overleving (77 vs 53% 5-jaars overleving) en totale overleving (86 vs 59% 5-jaars overleving). In de bcl-2-negatieve subgroep echter had de p53-status geen noemenswaardige invloed op de ziektevrije of totale overleving. In het algemeen werden in de subgroepen van klier-positieve en klier-negatieve patiënten vergelijkbare tendensen gevonden. Ook wat betreft de overleving na relapse hadden bcl-2-positieve/p53-negatieve patiënten duidelijk een betere prognose dan de drie andere subgroepen.

Meer studies betreffende deze subgroepen zijn nodig en een verklaring voor dit fenomeen, indien het wordt bevestigd, is niet gemakkelijk te geven. Omdat bcl-2-expressie bij het mammacarcinoom waarschijnlijk gekoppeld is aan een langzamere groei, kan worden gespeculeerd dat bij bcl-2-positieve mammacarcinomen de p53-status belangrijk is voor de prognose van de patiënt, hoewel dit niet noodzakelijkerwijze gerelateerd hoeft te zijn aan apoptose. Indien anderzijds verlies van bcl-2-expressie is gerelateerd met snellere groei van het mammacarcinoom, is het denkbaar dat de p53-status geen rol meer speelt.

In Hoofdstuk VI worden de resultaten beschreven van het bepalen van de microvaatdichtheid met anti-CD34 en anti-factor VIII RAg in dezelfde groep patiënten. Wij waren niet in staat de resultaten, zoals vermeld in het merendeel van de literatuur, te bevestigen, waarin gesteld wordt dat microvaatdichtheid een onafhankelijke prognostische factor is bij het primair mammacarcinoom.

Hoewel bij onze patiënten een hogere microvaatdichtheid, zoals vastgesteld met anti-CD34, geassocieerd was met een toenemend risico op een relapse bij analyse als een continue variabele, kon er geen cut-off waarde worden vastgesteld, die aanleiding gaf tot een significant verschil in ziektevrije overleving. Microvaatdichtheid, zoals bepaald door anti-factor VIII RAg, had geen invloed op zowel de ziektevrije als de totale overleving. Diverse andere onderzoekers waren ook niet in staat om de (onafhankelijke) prognostische waarde van microvaatdichtheid aan te tonen. Dit heeft geleid tot levendige discussies in de literatuur. Uit deze discussies kan worden geconcludeerd dat het meten van de microvaatdichtheid een technisch moeilijke methode is met diverse subjectieve aspecten. Daarom lijkt de huidige methode van het bepalen van de microvaatdichtheid nauwelijks bruikbaar voor gebruik in de routinepraktijk voor patiënten met een maligniteit.

Verder was bij onze patiënten leeftijd boven de 69 jaar gecorreleerd met een lagere microvaatdichtheid. Dit bevestigt de bevindingen in twee andere studies. Indien men aanneemt dat microvaatdichtheid ondanks methodologische problemen toch een prognostische factor is, suggereert dit dat oudere leeftijd geassocieerd is met een betere prognose bij het primaire mammacarcinoom.

Concluderend: kijkend naar alle onderzochte prognostische variabelen bleek de MIB-1 labeling index een onafhankelijke prognostische factor te zijn voor ziektevrije overleving en de p53-expressie voor totale overleving. Dit steunt veel van wat is gevonden in de literatuur, echter met een duidelijk langere follow-up dan in de meeste andere studies wordt gemeld. Echter in overeenstemming met de literatuur kan geen enkele van de meer recent ontwikkelde factoren, zoals in dit proefschrift bestudeerd, gebruikt worden voor beslissingen bij de behandeling van een individuele patiënt. Meer dan 20 jaar research met deze nieuwere prognostische factoren bij het primaire mammacarcinoom, heeft zelfs niet geleid tot veel vooruitgang op dit gebied. Een verbetering dienaangaande is alleen mogelijk wanneer meer uniforme methoden worden gebruikt in prospectieve studies. Het lijkt echter op dit moment onwaarschijnlijk dat één enkele prognostische factor in de toekomst gebruikt kan worden om te beslissen welke individuele patiënt profijt kan hebben van (adjuvante) systemische therapie.

Het is waarschijnlijk nuttiger deze nieuwere factoren te gebruiken om systemische therapie aan een individuele patiënt "op maat" te geven. Het feit dat bij onze patiënten zowel pS2 als p53 onafhankelijke prognostische waarde had in multivariate analyse voor de overleving na relapse, suggereert dat deze factoren kunnen worden gebruikt voor het voorspellen van een response op systemische therapie.

Er is niet veel literatuur betreffende dit onderwerp, maar diverse studies zijn op dit moment niet in tegenspraak met de stelling, dat nieuwere factoren beter kunnen worden gebruikt als predictieve dan als prognostische factoren. Meer studies dienaangaande zijn nodig, bij voorkeur prospectief en met uniforme methodologie. Verder kan worden gespeculeerd dat moleculair-biologische methoden, die specifieke genetische veranderingen onderzoeken, betere prognostische informatie geven. Hoewel op dit moment de meeste technieken om genetische veranderingen te ontdekken kostbaar en arbeidsintensief zijn, is het denkbaar dat bv. met de ontwikkeling van DNA-chip technologie, genetische screening meer algemeen toepasbaar wordt en gebruikt kan worden als prognostische factor.